

## 基于睾丸支持细胞结构功能探讨中药改善生精功能的动物实验系统评价

申毅锋<sup>1</sup>, 朱坤<sup>1</sup>, 李文元<sup>1</sup>, 董良<sup>2</sup>, 尤耀东<sup>1</sup>, 常德贵<sup>1</sup>, 俞旭君<sup>3\*</sup>

(1. 成都中医药大学附属医院, 代谢性疾病中医药调控四川省重点实验室, 成都 610075;

2. 成都中医药大学附属生殖妇幼医院, 成都 610041;

3. 成都中医药大学医学与生命科学学院, 成都 610075)

**[摘要]** 目的:系统评价中药对生精功能损害动物模型睾丸支持细胞结构功能的干预作用。方法:检索中国知网、维普、万方、EMbase、Pubmed数据库,筛选中药对生精功能损害动物模型睾丸支持细胞结构功能的实验研究。对文献偏倚风险进行评估,RevMan及Stata软件被用于结局指标分析。结果:共纳入30项研究,包含37篇随机对照实验文献。Meta分析结果显示,与模型组比较,中药可增加精子密度标准化均数差(SMD)=2.42,95%置信区间(CI)[1.47,3.37], $P<0.000\ 01$ ,增加精子活力SMD=2.35,95%CI[1.70,2.99], $P<0.000\ 01$ 。增加支持细胞骨架相关睾丸组织Vimentin及其mRNA水平。增加血睾屏障紧密连接相关睾丸组织Occludin、Claudin-11水平;增加血睾屏障黏附连接相关睾丸组织 $\beta$ -连环蛋白( $\beta$ -catenin)、N-钙黏蛋白(N-cadherin)水平;增加血睾屏障缝隙连接相关睾丸组织间隙连接蛋白43(Cx43)水平。改善支持细胞功能,增加血清抑制素B(INHB)含量,增加睾丸组织卵泡刺激素受体(FSHR)、INHB mRNA、雄激素结合蛋白(ABP) mRNA、运铁蛋白(TF)、干细胞因子(SCF)、SCF mRNA、胶质细胞源性神经营养因子(GDNF)、GDNF mRNA、骨形态发生蛋白(BMP4)、BMP4 mRNA,差异均有统计学意义( $P<0.05$ )。结论:中药能够有效提高生精功能损害动物模型的精子密度及活力,改善睾丸支持细胞结构及功能。然而受纳入文献质量因素的影响,以上论断有待相关高质量研究予以进一步验证。

**[关键词]** 中药;支持细胞;生精功能;Meta分析;系统评价

**[中图分类号]** R285;R289;R22;R2-031;R33 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2022)21-0201-11

**[doi]** 10.13422/j.cnki.syfjx.20221411

**[网络出版地址]** <https://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.r.20220818.1635.005.html>

**[网络出版日期]** 2022-08-19 10:25

### Systematic Review of Chinese Medicine in Improving Sperm Quality in Animal Experiments Based on Structure and Function of Sertoli Cells

SHEN Yifeng<sup>1</sup>, ZHU Kun<sup>1</sup>, LI Wenyan<sup>1</sup>, DONG Liang<sup>2</sup>, YOU Yaodong<sup>1</sup>, CHANG Degui<sup>1</sup>, YU Xujun<sup>3\*</sup>

(1. Key Laboratory of Traditional Chinese Medicine (TCM) in Regulation of Metabolic Diseases in

Sichuan Province, Hospital of Chengdu University of TCM, Chengdu 610075, China;

2. Reproductive & Women-Children Hospital, Chengdu University of TCM, Chengdu 610041, China;

3. School of Medical and Life Sciences, Chengdu University of TCM, Chengdu 610075, China)

**[Abstract]** **Objective:** To systematically review the intervention effect of Chinese medicine on the structure and function of testicular Sertoli cells in animal models of impaired spermatogenesis. **Method:** The databases, such as China National Knowledge Infrastructure (CNKI), VIP, Wanfang Data, EMbase, and Pubmed, were searched for experimental studies on the effect of Chinese medicine on the structure and function

**[收稿日期]** 2022-05-20

**[基金项目]** 国家自然科学基金项目(81973647);成都中医药大学“杏林学者”学科人才科研提升计划医院专项(2020yky06);成都中医药大学“杏林学者”学科人才科研提升计划项目(QJJ2021007)

**[第一作者]** 申毅锋,在读博士,从事中西医结合治疗男性生殖及泌尿疾病研究,E-mail:syf721@qq.com

**[通信作者]** \*俞旭君,副教授,从事中西医结合治疗男性生殖及泌尿疾病研究,E-mail:20639179@qq.com

of testicular Sertoli cells in animal models with impaired spermatogenesis. The included studies were evaluated for risks of bias, and the outcome indicators were analyzed with RevMan and Stata software. **Result:** Thirty studies were included, involving 37 randomized controlled trials (RCTs). As indicated by the Meta-analysis results, compared with the model group, Chinese medicine increased sperm density (SMD=2.42, 95% confidence interval (CI) [1.47, 3.37],  $P<0.000\ 01$ ), promoted sperm motility (SMD=2.35, 95%CI [1.70, 2.99],  $P<0.000\ 01$ ), up-regulated the protein and mRNA levels of Vimentin (related to Sertoli cell cytoskeleton), elevated the levels of Occludin and Claudin-11 (related to tight junction of blood-testis barrier), boosted the levels of  $\beta$ -catenin and N-cadherin (related to adherens junction of blood-testis barrier), raised the level of connexin 43 (Cx43, related to gap junction of blood-testis barrier), improved the function of Sertoli cells, increased the serum content of Inhibin B (INHB), and up-regulated the levels of testicular follicle-stimulating hormone receptor (FSHR), INHB mRNA, androgen-binding protein (ABP) mRNA, transferrin (TF), stem cell factor (SCF), SCF mRNA, glial cell line-derived neurotrophic factor (GDNF), GDNF mRNA, bone morphogenetic protein 4 (BMP4), and BMP4 mRNA ( $P<0.05$ ). **Conclusion:** Chinese medicine can effectively increase sperm density and motility of animal models of impaired spermatogenesis, and improve the structure and function of testicular Sertoli cells. However, affected by the quality of the included studies, the above conclusion needs to be further verified by relevant high-quality studies.

[**Keywords**] Chinese medicine; Sertoli cells; spermatogenic function; Meta-analysis; systematic review

男性生精功能低下会导致精液质量下降,甚则导致不育,是现目前导致生育率逐年下降的主要原因之一。支持细胞能够为睾丸中的精子提供保护和营养,是生精环节和生精环境中的重要组成部分<sup>[1]</sup>。中医药治疗疾病具有多靶点多机制协同的特色,虽然中医药治疗男性不育症已开展了较多的临床及实验研究,但是对于其如何改善生精功能的作用靶点尚未进行系统的梳理及总结,尤其是支持细胞作为生精作用靶点的系统评价目前仍是空白。为进一步总结中药基于支持细胞的作用机制及靶点,本研究对团队及领域内相关研究进行进一步总结与梳理,为后续支持细胞的血睾屏障相关结构研究、归巢相关功能研究及支持细胞与生精细胞凋亡关系探讨的铺垫基础。本研究准备以睾丸支持细胞结构功能研究作为切入点,采用系统评价研究对补肾中药干预雄性生殖损害动物模型中相关支持细胞治疗靶点进行梳理,以期进一步揭示中药改善生精功能机制的确切性,并为后续研究提供参考。

## 1 资料与方法

**1.1 筛选标准** 纳入标准,①纳入研究类型:方法基于随机对照的动物实验研究;②研究对象:雄性生殖功能损伤(睾丸损伤及精子质量下降)的雄性动物模型;③干预措施:治疗组应采用补肾类中药复方、中成药、单味药、中药提取物进行治疗,模型组采用蒸馏水、去离子水、生理盐水、混悬剂等进行灌胃治疗;④结局指标:精子质量、支持细胞骨架蛋

白、支持细胞分泌功能相关蛋白。排除标准,①非随机对照实验、半随机对照实验及随机错误的假随机对照实验;②跨数据库的同一文献,进行比较筛选留存数据最完整的一篇;③研究结局指标及数据重复的研究文献;④综述、临床研究系统评价类文献;⑤涉及动物细胞及人体的相关研究;⑥无法提取或提取不到完整数据的实验研究。

**1.2 文献来源** 检索数据库中国知网、万方、维普、Pubmed、Web of Science、EMbase,检索的文献范围为自各数据库成立至2022年3月30日,纳入其中的补肾类中药治疗生殖功能下降及损伤的动物实验文献,收集完整文献并进行阅读。

**1.3 检索策略** 中文检索词包括中医、中西医结合、中成药、中药、中草药、经典方、汤药、草药、方剂、中药提取物、不育、少精子症、弱精子症、畸形精子症、无精子症、睾丸、附睾、精子、精液、支持细胞、血睾屏障、生殖、肾精、精子质量、动物模型、动物实验、实验、动物、小鼠、大鼠、犬、兔、猪。英文检索词包括 traditional Chinese herb、traditional Chinese medicine、Chinese herbal medicine、Chinese patent medicine、Integration of traditional and western medicine、Herb、decoction、Formulae、Chinese medicine extract、infertility、oligospermia、asthenospermia、teratospermia、azoospermia、testis、epididymis、Sertoli cells、blood testis barrier、sperm、semen、reproduction、kidney essence、sperm quality、

animal model、animal experiment、experiment、animal、mice、rat、rabbit、dog、pig。

**1.4 资料提取与分析** 使用Note Express进行文献管理,对标题进行初筛,重复文章进行对照剔除,二次筛选采用对纳入文章阅读摘要及全文的方法,通过纳排标准筛选文献,并提取文献中关键资料。由两名人员对文献独立筛选提取并交叉核对,由第三方对所存在的分歧进行讨论协商,若有文章中数据不全联系原作者取得缺失信息。提取信息标准为,对纳入研究提取①基本信息:第一作者姓名、文章出版年份、文章标题、实验组及对照组样本量、实验动物品种、实验动物模型、动物年龄及质量;②干预措施:采用的药物名称、药物所使用剂量、实验干预时间;③与偏倚风险相关要素;④研究结局数据指标。将实验方法及动物数量相同、发文机构相似及时间相近、而结局指标分散报道在不同文献上的视为同一项实验研究进行统计。

**1.5 偏倚风险评价** 偏倚风险先由两名人员独立摘选记录,然后进行互相交叉核对。SYRCLE(systematic review center for laboratory animal experimentation)被用来评估动物实验偏倚。

**1.6 统计学分析** 采用Revman及STATA软件进行。连续型变量,计量资料采用标准化均数差,计算点估计值和95%可信区间(CI)。使用 $\chi^2$ 检验进行异质性分析,并使用 $I^2$ 定量判断异质性大小。 $I^2 \leq 50\%$ 采用固定效应模型, $I^2 > 50\%$ 将进行异质性来源分析,若可排除方法学异质性的可选用随机效应模型或描述性分析。

## 2 结果

**2.1 文献检索与筛选情况** 本研究内经过初次文献检索共得到文献1 075篇(中文963篇,英文112篇)。阅读标题将其中392篇重复文献剔除,通过标题及摘要筛除541篇研究包括综述或会议论文、临床研究、离体实验、不涉及中药的相关治疗、未设置对照组,阅读全文删除105篇实验研究结局数据不明、同一文献重复发表。30项研究被纳入分析,包括37篇文献,其中36篇中文,1篇英文。具体文献筛选流程见图1。

**2.2 纳入研究的基本特征** 所纳入文献的基本特征见表1。

**2.3 偏倚风险评价结果** 总30项研究中有6项研究采用随机数字表法进行随机,其余研究的随机分配机制为不确定因素。针对动物基线特征、动物研究计划书报告及中药干预后模型评估报告充分,但

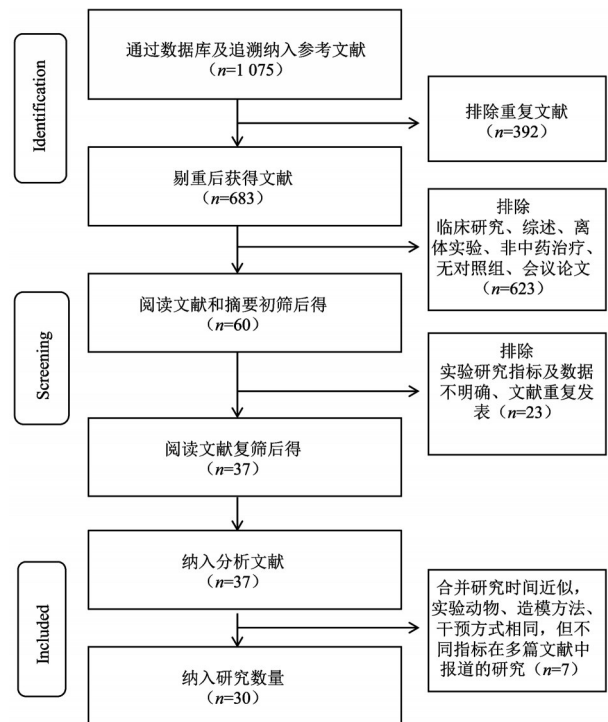


图1 文献筛选流程及结果

Fig. 1 Document screening process and results

在分配隐藏、盲法研究等内容报告不充分,且无法判定存在其他偏倚,故不足以明确其潜在偏倚风险,具体见表2。

## 2.4 Meta分析结果

**2.4.1 中药对精子质量的影响** 精子密度共纳入11个研究<sup>[3-6,8-12,22-26,34,38]</sup>。检验提示存在异质性( $I^2=90\% > 50\%$ ,  $P < 0.000 01$ ),采用随机效应模型,Meta分析结果显示,中医药干预组精子密度优于模型组,中药可增加精子密度,差异具有显著统计学意义。(SMD=2.42, 95%CI[1.47, 3.37],  $P < 0.000 01$ )。精子活力共纳入8个研究<sup>[3,6,8-9,11-12,23-26,34]</sup>。检验提示存在异质性( $I^2=64\% > 50\%$ ,  $P < 0.000 01$ ),采用随机效应模型,Meta分析结果显示,中医药干预组的精子活力优于模型组,结论显示中药能够增加精子活力,差异具有显著统计学意义。(SMD=2.35, 95%CI[1.70, 2.99],  $P < 0.000 01$ )。见增强出版附加材料。

鉴于中药干预精子密度及精子活力的Meta分析结果中有着较大的异质性,根据纳入文献基本情况进行推测,该异质性的存在可能与动物种属、造模方式、方药、干预时间等因素相关。将上述各影响因素当做协变量进行回归分析探究。回归分析结果显示,动物种属、造模方式、方药、干预时间这几项因素对研究间的异质性无显著影响。见表3。

进一步进行亚组分析,发现中药干预精子密度

表1 纳入研究文献基本特征

Table 1 Basic characteristics of included research literature

编号	文献	动物种类	造模方法	动物年龄	体质量/g	实验组	对照组	干预方法(实验组)	干预方法(对照组)	周期	包含指标	药物组成
1	[2]	SD大鼠	自然衰老模型(17个月龄)	17月	450±20	16 (8/8)	8	0.1、0.4 g·kg <sup>-1</sup> ·d <sup>-1</sup> 含药饲料喂养	普通饲料喂养	4个月	Vimentin、Occludin、ZO-1、β-catenin	肾气丸
2	[3]	C57BL/6小鼠	DBP灌胃	6周	200±20	7	7	40 mg·kg <sup>-1</sup> ·d <sup>-1</sup> 皮下注射	无	35 d	精子质量、Cx43	人参皂苷Rg <sub>1</sub> 、Rg <sub>3</sub>
3	[4-5]	SD大鼠	自然衰老模型(16个月龄)	16月	未提及	20 (10/10)	10	2、6 mg·kg <sup>-1</sup> ·d <sup>-1</sup> 含药饲料喂养	普通饲料喂养	4个月	精子质量、GDNF、BMP4、SCF	淫羊藿苷
4	[6]	Wistar大鼠	雷公藤多苷	8周	250~300	36 (12/12/12)	12	5、10、15 g·kg <sup>-1</sup> ·d <sup>-1</sup> 汤药灌胃	无	5周	精子质量、INHB	益肾活血方
5	[7]	SD大鼠	雷公藤多苷	8周	300~350	10 (5/5)	5	6.6、26.6 g·kg <sup>-1</sup> ·d <sup>-1</sup> 中药煎汤灌胃	CMC-Na	30 d	Vimentin、Claudin-11、INHB	补肺益肾方
6	[8-9]	SD大鼠	雷公藤多苷	12周	280±30	14	14	3 g·kg <sup>-1</sup> ·d <sup>-1</sup> 汤药灌胃	去离子水	4周	精子质量、Occludin、ZO-1、β-catenin、N-cadherin、CX43、INHB、SCF	枸杞子、菟丝子
7	[10]	昆明种雄性小鼠	双酚A	6周	30~35	48 (24/24)	24	0.69、1.39 g·kg <sup>-1</sup> ·d <sup>-1</sup> 药物混悬液灌胃	CMC-Na	3周	精子质量、N-cadherin、Cx43、Occludin	杜仲补天素胶囊
8	[11-12]	SD大鼠	雷公藤多苷	3月	210±10	10	10	3 g·kg <sup>-1</sup> ·d <sup>-1</sup> 汤药灌胃	去离子水	4周	精子质量、INHB、SCF	广嗣育麟汤
9	[13]	SD大鼠	腺嘌呤	成年	180~210	30 (10/10/10)	10	50.00、100.00、200.00 mg·kg <sup>-1</sup> ·d <sup>-1</sup> 药物混悬液灌胃	生理盐水	30 d	INHB	温肾丸
10	[14]	C57BL/6J小鼠	雷公藤多苷	未提及	25~30	30 (10/10/10)	10	1.5、3、6 g·kg <sup>-1</sup> ·d <sup>-1</sup> 药物混悬液灌胃	CMC-Na	40 d	ZO-1、Occludin	JAMA、五子衍宗丸
11	[15]	SD大鼠	环磷酰胺	5~7周	180~220	10	10	0.45 g·kg <sup>-1</sup> ·d <sup>-1</sup> 药物灌胃	生理盐水	4周	Occludin、ZO-1	强精片
12	[16]	SD大鼠	自然衰老模型(17个月龄)	18月	450±20	17 (8/9)	9	10、40 mg·kg <sup>-1</sup> ·d <sup>-1</sup> 药物混悬液灌胃	CMC-Na	4个月	GDNF、BMP4、SCF	淫羊藿总黄酮
13	[17-18]	SD大鼠	肾静脉给予逆行结扎、VC模型	6~7周	195.86±13.86	20 (10/10)	10	200、400 mg·kg <sup>-1</sup> ·d <sup>-1</sup> 药物灌胃	生理盐水	30 d	Vimentin、FSHR	巴戟天水提取物
14	[19-20]	SD大鼠	自然衰老模型(18个月龄)	18月	550±50	30 (10/10/10)	10	0.4、0.8、1.6 g·kg <sup>-1</sup> ·d <sup>-1</sup> 药物灌胃	生理盐水	4个月	GDNF、BMP4、SCF	五子衍宗丸
15	[21]	ICR小鼠	白消安	4周	25	5	5	2 000、8 000 mg·kg <sup>-1</sup> 含药饲料喂养	无	4周	SCF、BMP4	麒麟丸
16	[22]	SD大鼠	锰染毒	成年	未提及	10	10	50.00、100.00、200.00 mg·kg <sup>-1</sup> ·d <sup>-1</sup> 药物灌胃	无	30 d	精子质量、Occludin、ZO-1	九香虫提取物
17	[23]	SD大鼠	环磷酰胺	6~8周	未提及	20	20	0.5 g·kg <sup>-1</sup> ·d <sup>-1</sup> 药物灌胃	无	4周	精子质量、GDNF	锁阳水提物
18	[24-25]	SD大鼠	雷公藤多苷	12周	280±30	12	12	6 g·kg <sup>-1</sup> ·d <sup>-1</sup> 药物混悬液灌胃	去离子水	4周	精子质量、INHB、SCF	左归丸

续表 1

编号	文献	动物种类	造模方法	动物年龄	体质量/g	实验组	对照组	干预方法(实验组)	干预方法(对照组)	周期	包含指标	药物组成
19	[26]	SD大鼠	雷公藤多苷	8周	300~350	15	5	0.5、1、1.5 g·kg <sup>-1</sup> ·d <sup>-1</sup> 药物混悬液灌胃	CMC-Na	30 d	精子质量、Vimentin	五子衍宗丸
20	[27]	SD大鼠	环磷酰胺	成年	未提及	32	8	10、20、30、40 g·kg <sup>-1</sup> ·d <sup>-1</sup> 药物灌胃	生理盐水	14 d	FSHR、ABP	巴戟天水提取物
21	[28]	SD大鼠	雷公藤多苷	3周/9周	60±5/300	12	12	0.2 g·kg <sup>-1</sup> ·d <sup>-1</sup> 药物混悬液灌胃	CMC-Na	8周	SCF	菟丝子黄芩
22	[29-30]	SD大鼠	雷公藤多苷	8周	300~350	15	5	0.5、1.0、2 g·kg <sup>-1</sup> ·d <sup>-1</sup> 药物混悬液灌胃	CMC-Na	30 d	Claudin-11、INHB、ABP、TF	五子衍宗丸
23	[31]	SD大鼠	雷公藤多苷	2.5~3月	210~230	29	8	58.00、223 mg·kg <sup>-1</sup> ·d <sup>-1</sup> 药物混悬液灌胃	105.00、生理盐水	4周	ABP、Occludin	强精片
24	[32]	SD大鼠	镉染毒	未提及	152±20	15	15	5 mg·kg <sup>-1</sup> ·d <sup>-1</sup> 药物灌胃	生理盐水	3个月	ABP、INHB	灵芝孢子粉
25	[33]	SD大鼠	DEHP、CYP联合染毒	21 d	60±5	10	10	120 g·kg <sup>-1</sup> ·tid <sup>-1</sup> 汤药灌胃	无	4周	FSHR、ABP、INHB、Vimentin	熟地黄、龟板胶、淫羊藿、鹿角胶等
26	[34]	Wistar大鼠	腺嘌呤	2月	180±20	12	12	16 g·kg <sup>-1</sup> ·d <sup>-1</sup> 汤药灌胃	生理盐水	20 d	精子质量、INHB、Occludin	益精方
27	[35]	Wistar大鼠	射线局部照射	成年	220~230	15	15	80 mg·kg <sup>-1</sup> ·d <sup>-1</sup> 药物混悬液灌胃	生理盐水	2周	ABP	枸杞多糖
28	[36]	BALB/c小鼠	注射乙酸,自身免疫性睾丸炎模型	10周	20±5	30	10	0.938%、1.875%、3.375% 浓度挥发油灌胃	生理盐水	24 d	INHB	椒蒿挥发油
29	[37]	SD大鼠	雷公藤多苷	成年	230~250	24	8	0.5、1、2 g·kg <sup>-1</sup> ·d <sup>-1</sup> 药物混悬液灌胃	CMC-Na	30 d	INHB	五子衍宗丸
30	[38]	KM小鼠	盐酸氮芥	4周	20~25	24	8	125.00、500.00 mg·kg <sup>-1</sup> ·d <sup>-1</sup> 药物灌胃	生理盐水	5 d	N-cadherin	叶下珠提取物

注: CMC-Na. 羧甲基纤维素钠; Vimentin. 波形纤维蛋白; Occludin. 闭合蛋白; ZO-1. 胞质紧密黏连蛋白-1;  $\beta$ -catenin.  $\beta$ -连环蛋白; N-cadherin. N-钙黏蛋白; Cx43. 间隙连接蛋白43; FSHR. 卵泡刺激素受体; INHB. 抑制素B; ABP. 雄激素结合蛋白; TF. 转铁蛋白; SCF. 干细胞因子; GDNF. 神经胶质源神经营养因子; BMP4. 骨成形蛋白4

的研究中,按干预时间区分为<4周、≥4周<3个月和>3个月,根据指标显示其组间差异存在统计学意义( $P=0.0002$ );按照疾病模型区分为少弱精子症模型、睾丸染毒模型、自然衰老模型组间差异存在统计学意义( $P=0.0006$ )。干预时间及疾病模型可能为中药干预精子密度的研究间异质性来源。中药干预精子活力的研究中,按动物种属区分为大鼠、小鼠,组间差异存在统计学意义( $P=0.009$ ),按照疾病模型区分为少弱精子症模型、睾丸染毒模型,组间差异存在统计学意义( $P=0.009$ )。动物种属及疾病模型可能为中药干预精子活力的研究间异质性来源。见表4。

为探究该研究结果稳定及可靠性,将研究内中

药干预动物模型精子密度和精子活力相关研究纳入敏感性分析。依次将所纳入文献剔除一项研究,把剩余研究合并观察。纳入敏感性分析的研究结果表明,敏感性分析中药对精子密度和活力影响合并效应量的结果影响不显著,研究结果较为稳健。见增强出版附加材料。

**2.4.2 中药对支持细胞结构的影响** 支持细胞骨架:睾丸组织 Vimentin 水平,共纳入5个研究<sup>[2,7,17-18,26,33]</sup>。随机效应模型 Meta 分析结果显示,中药可增加睾丸组织 Vimentin 水平( $SMD=3.62$ ,  $95\%CI[1.36, 5.88]$ ,  $P=0.002$ )。睾丸组织 Vimentin mRNA 水平,纳入2项研究<sup>[17-18,33]</sup>。使用随机效应模型,中药可增加睾丸组织 Vimentin mRNA 水平

表2 纳入研究SYRCLE 偏倚风险评估结果

Table 2 SYRCLE bias risk assessment results of included studies

序号	研究	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧	⑨	⑩
1	张艳 2021	U	Y	U	Y	U	U	Y	Y	Y	U
2	李环 2020	U	Y	U	U	U	U	Y	Y	Y	U
3	尤旭 2020、Haixia Zhao2020	Y	Y	U	Y	U	U	Y	Y	Y	U
4	袁卓珺 2020	U	Y	U	U	U	U	Y	Y	Y	U
5	崔天薇 2020	Y	Y	U	U	U	U	Y	Y	Y	U
6	管斯琪 2020	U	Y	U	U	U	U	Y	Y	Y	U
7	曹兵 2020	U	Y	U	U	U	U	Y	Y	Y	U
8	李琰峰 2020、董雷 2019	Y	Y	U	Y	U	U	Y	Y	Y	U
9	黄小庆 2019	U	Y	U	U	U	U	Y	Y	Y	U
10	高云霄 2019	U	Y	U	U	U	U	Y	Y	Y	U
11	李俊君 2019	U	Y	U	U	U	U	Y	Y	Y	U
12	陈茜 2019	U	Y	U	Y	U	U	Y	Y	Y	U
13	丁小明 2018、2016	Y	Y	U	U	U	U	Y	Y	Y	U
14	刘珍财 2018、2017	U	Y	U	Y	U	U	Y	Y	Y	U
15	刘纳川 2018	Y	Y	U	Y	U	U	Y	Y	Y	U
16	王凤月 2018	U	Y	U	U	U	U	Y	Y	Y	U
17	曹义娟 2017	U	Y	U	Y	U	U	Y	Y	Y	U
18	王彬 2017、马凰富 2016	U	Y	U	Y	U	U	Y	Y	Y	U
19	柯明辉 2017	U	Y	U	Y	U	U	Y	Y	Y	U
20	陈桐君 2016	U	Y	U	U	U	U	Y	Y	Y	U
21	宫廷 2016	U	Y	U	U	U	U	Y	Y	Y	U
22	张秀平 2015、杨超伟 2014	Y	Y	U	U	U	U	Y	Y	Y	U
23	尤耀东 2015	U	Y	U	Y	U	U	Y	Y	Y	U
24	刘艳荣 2015	U	Y	U	Y	U	U	Y	Y	Y	U
25	高连连 2014	U	Y	U	Y	U	U	Y	Y	Y	U
26	王力 2014	U	Y	U	Y	U	U	Y	Y	Y	U
27	赵亚兵 2012	U	Y	U	Y	U	U	Y	Y	Y	U
28	王春娥 2010	U	Y	U	Y	U	U	Y	Y	Y	U
29	杨阿民 2010	U	Y	U	U	U	U	Y	Y	Y	U
30	张德迎 2008	U	Y	U	Y	U	U	Y	Y	Y	U

注:①.序列产生;②.基线相同;③.分配隐藏;④.动物实验随机安置;⑤.施盲;⑥.结果评价动物随机;⑦.结果评价者盲法;⑧.不完整数据报道;⑨.研究报道;⑩.其他高风险偏倚因素;Y是,N否,U不确定

(SMD=3.34, 95%CI[2.42, 4.26],  $P<0.000\ 01$ )。血睾屏障结构:紧密连接 Occludin、ZO-1。睾丸组织 Occludin 水平,共纳入 8 个研究<sup>[2,8-10,14-15,22,31,34]</sup>。随机效应模型 Meta 分析结果显示,中药可增加睾丸组织 Occludin 水平(SMD=2.91, 95%CI[1.70, 4.12],  $P<0.000\ 01$ )。睾丸组织 ZO-1 水平,共纳入 4 个研

表3 中药干预精子密度及精子活力的协变量多因素回归分析

Table 3 Multivariate regression analysis of covariates of traditional Chinese medicine intervention in sperm density and sperm motility

分类	项目	回归系数	标准误	t	P	95%CI	
精子密度	动物种属	1.74	14.17	0.12	0.90	-32.94	36.44
	干预时间	5.45	8.32	0.65	0.53	-14.92	25.83
	药物成分	-20.15	9.91	-2.03	0.08	-44.41	4.10
精子活力	动物种属	8.68	6.97	1.25	0.25	-8.37	25.75
	干预时间	-0.21	0.55	-0.38	0.71	-1.56	1.13
	药物成分	2.41	1.40	1.72	0.13	-1.02	5.85
疾病模型	药物成分	0.57	1.20	0.48	0.64	-2.37	3.52
	疾病模型	0.31	0.82	0.38	0.71	-1.70	2.34

究<sup>[2,8-9,14,22]</sup>。随机效应模型 Meta 分析结果显示,中药可增加睾丸组织 ZO-1 水平(SMD=1.49, 95%CI[0.12, 2.85],  $P=0.03$ )。睾丸组织 Claudin-11 水平,共纳入 2 个研究<sup>[7,29-30]</sup>。随机效应模型 Meta 分析结果显示,中药可增加睾丸组织 Claudin-11 水平(SMD=2.99, 95%CI[1.88, 4.09],  $P<0.000\ 01$ )。黏附连接  $\beta$ -catenin、N-cadherin。睾丸组织  $\beta$ -catenin 水平,共纳入 2 个研究<sup>[2,8-9]</sup>。随机效应模型 Meta 分析结果显示,中药可增加睾丸组织  $\beta$ -catenin 水平(SMD=1.72, 95%CI[1.06, 2.39],  $P<0.000\ 01$ )。睾丸组织 N-cadherin 水平,共纳入 3 个研究<sup>[8-10,38]</sup>。随机效应模型 Meta 分析结果显示,中药可增加睾丸组织 N-cadherin 水平(SMD=5.02, 95%CI[2.20, 7.83],  $P=0.000\ 5$ )。缝隙连接 Cx43。睾丸组织 Cx43 水平,共纳入 3 个研究<sup>[3,8-10]</sup>。随机效应模型 Meta 分析结果显示,中药可增加睾丸组织 Cx43 水平(SMD=2.14, 95%CI[0.47, 3.80],  $P=0.01$ )。

**2.4.3 中药对支持细胞功能的影响** 睾丸组织 FSHR 水平共纳入 3 个研究<sup>[17-18,27,33]</sup>。随机效应模型 Meta 分析结果显示,中药可增加睾丸组织 FSHR 水平(SMD=2.18, 95%CI[1.43, 2.93],  $P<0.000\ 01$ )。睾丸组织 FSHR mRNA 水平共纳入 3 个研究<sup>[17-18,27,33]</sup>。随机效应模型 Meta 分析结果显示,中药可增加睾丸组织 FSHR mRNA 水平(SMD=1.96, 95%CI[0.79, 3.14],  $P=0.001$ )。血清 INHB 含量共纳入 9 个研究<sup>[6-9,11-13,24-25,29-30,36-37]</sup>。随机效应模型 Meta 分析结果显示,中药可增加血清 INHB 含量(SMD=2.74, 95%CI[1.43, 4.05],  $P<0.000\ 1$ );睾丸组织 INHB mRNA 水平共纳入 2 个研究<sup>[32-33]</sup>。随机效应模型 Meta 分析结果显示,中药可增加睾丸组织 INHB mRNA 水平(SMD=1.76, 95%CI[0.78, 2.74],

表4 中药干预精子密度及精子活力的亚组分析

Table 4 Subgroup analysis of traditional Chinese medicine intervention in sperm density and sperm motility

指标	亚组	项目	研究数量/个	结果	P	I <sup>2</sup> /%	组间差异P
精子密度	动物种属	大鼠	9 <sup>[4-6,8-9,11-12,22-26,34]</sup>	21.63[13.86,29.41]	<0.000 01	94	0.15
		小鼠	2 <sup>[3,10]</sup>	9.15[-6.06,24.35]	0.24	98	
	干预时间	<4周	2 <sup>[10,34]</sup>	7.81[-4.54,20.16]	0.22	99	0.000 2
		≥4周,<3个月	8 <sup>[3,6,8-9,11-12,22-26]</sup>	19.49[10.76,28.23]	<0.000 01	93	
		≥3个月	1 <sup>[4-5]</sup>	45.00[31.85,58.15]	<0.000 01	-	
	药物成分	中药	7 <sup>[6,8-12,24-26,34]</sup>	13.08[5.84,20.33]	0.000 4	98	0.06
		提取物	4 <sup>[3-5,22-23]</sup>	29.25[13.96,44.54]	0.000 2	95	
	疾病模型	少弱精子症模型	7 <sup>[6,8-9,11-12,23-26,34]</sup>	19.55[11.11,27.99]	<0.000 01	95	0.000 6
		睾丸染毒模型	3 <sup>[3,10,22]</sup>	10.98[-1.69,23.65]	<0.000 01	96	
		自然衰老模型	1 <sup>[4-5]</sup>	45.00[31.85,58.15]	<0.000 01	-	
总效应		11 <sup>[3-6,8-12,22-26,34]</sup>	19.05[11.71,26.38]	<0.000 01	98		
精子活力	动物种属	大鼠	7 <sup>[6,8-9,11-12,23-26,34]</sup>	14.90[9.80,19.99]	<0.000 01	51	0.009
		小鼠	1 <sup>[3]</sup>	20.43[17.05,23.81]	<0.000 01	-	
	干预时间	<4周	1 <sup>[34]</sup>	8.20[4.69,11.71]	<0.000 01	-	0.29
		≥4周,<3个月	7 <sup>[3,6,8-9,11-12,23-26]</sup>	16.82[11.43,22.21]	<0.000 01	69	
	药物成分	中药	6 <sup>[6,8-9,11-12,24-26,34]</sup>	14.76[8.88,20.64]	<0.000 01	56	0.33
		提取物	2 <sup>[3,23]</sup>	18.45[14.24,22.66]	0.11	83	
	疾病模型	少弱精子症模型	7 <sup>[6,8-9,11-12,23-26,34]</sup>	2.14[1.60,2.68]	<0.000 01	51	0.009
		睾丸染毒模型	1 <sup>[3]</sup>	5.92[3.13,8.71]	<0.000 01	-	
	总效应		8 <sup>[3,6,8-9,11-12,23-26,34]</sup>	15.66[10.77,20.55]	<0.000 01	91	

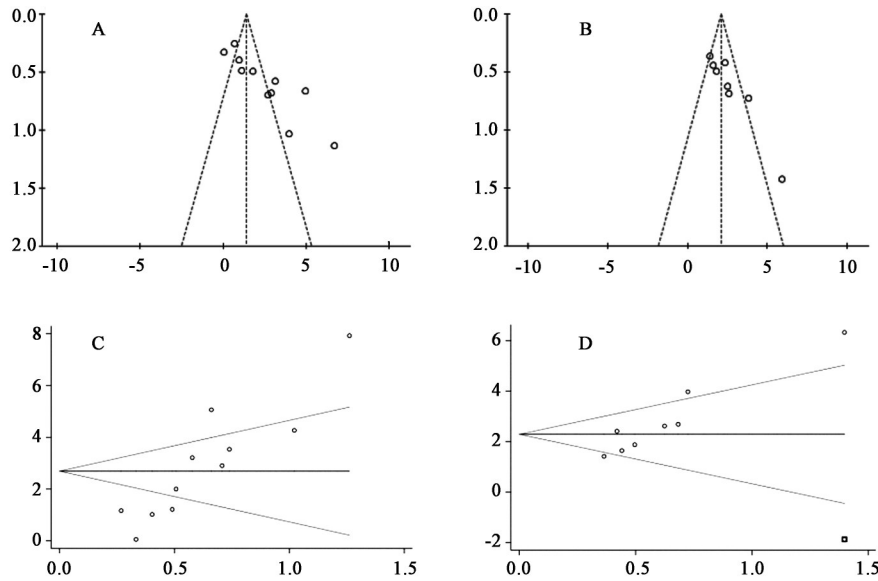
$P=0.000 4$ )。睾丸组织 ABP mRNA 水平,共纳入 4 个研究<sup>[27,32-33,35]</sup>。随机效应模型 Meta 分析结果显示,中药可增加睾丸组织 ABP mRNA 水平(SMD=4.47,95%CI[1.35,7.60], $P=0.005$ )。睾丸组织 TF 水平共纳入 2 个研究<sup>[7,29-30]</sup>。随机效应模型 Meta 分析结果显示,中药可增加睾丸组织 TF 水平(SMD=0.11,95%CI[0.04,0.18], $P=0.003$ )。睾丸组织 SCF 水平,共纳入 8 个研究<sup>[4-5,8-9,11-12,16,19-21,24-25,28]</sup>。使用随机效应模型,中药增加了动物模型的睾丸组织中 SCF 水平(SMD=4.88,95%CI[3.46,6.30], $P<0.000 01$ );睾丸组织 SCF mRNA 水平,共纳入 5 个研究<sup>[8-9,16,19-20,24-25,28]</sup>。随机效应模型 Meta 分析结果显示,中药可增加睾丸组织 SCF mRNA 水平(SMD=1.90,95%CI[0.89,2.91], $P=0.000 2$ )。睾丸组织 GDNF 水平共纳入 5 个研究<sup>[4-5,11-12,16,19-20,23]</sup>。随机效应模型 Meta 分析结果显示,中药可增加睾丸组织 GDNF 水平(SMD=3.68,95%CI[2.01,5.35], $P<0.000 01$ );睾丸组织 GDNF mRNA 水平,共纳入 3 个研究<sup>[11-12,16,19-20]</sup>。随机效应模型 Meta 分析结果显示,中药可增加睾丸组织 GDNF mRNA 水平(SMD=

3.00,95%CI[1.47,4.52], $P=0.000 01$ )。睾丸组织 BMP4 水平共纳入 4 个研究<sup>[4-5,16,19-21]</sup>。随机效应模型 Meta 分析结果显示,中药可增加睾丸组织 BMP4 水平(SMD=7.28,95%CI[2.49,12.06], $P=0.003$ );睾丸组织 BMP4 mRNA 水平,共纳入 2 个研究<sup>[16,19-20]</sup>。随机效应模型 Meta 分析结果显示,中药可增加睾丸组织 BMP4 mRNA 水平(SMD=4.86,95%CI[1.33,8.40], $P=0.007$ )。

**2.4.4 发表偏倚分析** 对中药干预精子密度及精子活力制作漏斗图,存在发表偏倚检验为消除发表偏倚,使用剪补法,中药干预精子密度(SMD=2.69,95%CI[1.71,3.68], $P<0.001$ )及精子活力(SMD=2.29,95%CI[1.52,3.05], $P<0.001$ )的合并效应量发生变化,矫正后效应值方向未变未跨越无效线,说明两项研究的发表偏倚对结果影响不大,见图 2。

### 3 讨论

中医对于生殖的认识起自 2 000 年前,周易所载“妇孕不育”“男女媾精万物化生”。中医医家普遍认为肾气、肾精为男性生殖之本,提出肾藏精及



注:A.中药干预精子密度漏斗;B.中药干预精子活力漏斗;C.中药干预精子密度剪补法分析;D.中药干预精子活力剪补法分析

图2 中药干预精子密度、精子活力的漏斗图及剪补法分析

Fig. 2 Funnel diagram and analysis diagram of cutting and supplementing method of traditional Chinese medicine intervention in sperm density and sperm motility

主生殖,只有肾精充足,肾气满盛,天癸至,冲任通盛,方能生育。本次评价纳入模型总分为3类,包括生精功能障碍、老龄模型、环境毒物污染型。其中中医证型共同特点为病位在肾,病机归于肾精损伤或亏虚,生殖之精失于濡养,肾气虚则推动无力,生殖相关组织遭到破坏或代谢缓慢,进而导致生殖功能障碍。

支持细胞在维持精子生发过程中具有重要作用。支持细胞对维持生精小管内部的微环境具有积极作用,能够合成如雄激素结合蛋白等的多种物质调节周围的各级生精细胞增殖分化,此外能够提供支持和营养的作用。因此破坏或影响支持细胞结构和功能完整性,均可能影响生精过程<sup>[1]</sup>。支持细胞作为精子发生的重要组成部分和环节,因此肾阳亏虚,肾精不足将导致支持细胞相关功能性降低,故其治疗核心以补益肾气、生养肾精为主。

基于此,本研究以研究基于补肾法相关的方药通过支持细胞相关靶点及通道改善患者生精功能为目的,从中药对精子质量、支持细胞结构和支持细胞功能3个层面进行Meta分析,从不同层面阐述中药改善生精功能的疗效及机制,见图3。

研究共纳入了30个实验,纳入研究的疾病对象包含生精功能障碍、老龄模型、环境毒物污染等,此类疾病模型均存在生精功能障碍的特点。评价了的中药经典方剂五子衍中丸、肾气丸;自创方益肾活血方、补肺益肾方、广嗣育麟汤、杜仲补天素胶

囊、温肾丸、强精片、麒麟丸、益精方;中药提取物如人参皂苷、锁阳水提取物、菟丝子黄酮、巴戟天水提取物等。其中纳入的各方剂、单味药提取物等均存在补肾益气的功效。

结果显示,功效为补肾益精法的中药可提高生殖功能损害模型的精子密度及精子数量,具有改善生精功能的功效。补肾类中药可增加精子密度(SMD=2.42, 95%CI[1.47, 3.37],  $P<0.000\ 01$ );增加精子活力(SMD=2.35, 95%CI[1.70, 2.99],  $P<0.000\ 01$ )。分析发现,此类方药多以补肾益精为核心功效,如五子衍中丸、左归丸等均以补肾法为中心思路,药物频数分析显示这些复方中使用频次较多的药物依次为菟丝子、枸杞子、熟地黄、山药、五味子、黄芪、山茱萸等具有补益肝脾肾精气的药物,而单体药物提取物,如人参皂苷、锁阳水提取物等均具有补益元气肾精等功效,证明了以补肾法为核心的遣方组药对于补益肾气,改善患者生精功能具有较好的疗效。

补肾益精类中药可保护和修复支持细胞内结构功能。结果显示,补肾益精类中药能够改善生精功能下降动物模型的支持细胞结构。Vimentin是构成支持细胞骨架中间纤维的重要成分,在细胞的发育中存在重要作用,缺少波形蛋白将影响细胞的完整性和细胞骨架的稳定性。纳入研究发现,五子衍中丸、补肺益肾方和巴戟天水提取物分别对提高雷公藤多苷SD大鼠(肾精亏虚型)及肾静脉结扎SD

大鼠(肾精亏虚夹淤型)支持细胞骨架相关睾丸组织 Vimentin、Vimentin mRNA 水平具有促进作用。此外,采用补益肾气的肾气丸、熟地黄等药物对睾丸染毒及自然衰老所导致睾丸 vimentin 下降也具有调节改善功能。

补肾益精类中药能够提高支持细胞血睾屏障稳固性。血睾屏障能够将管腔与曲细精管的精子生发区域分隔开,为精子的生发提供稳定的内环境,其连接结构主要由紧密连接、黏附连接、缝隙连接构成。紧密连接是由相邻的支持细胞形成的连接结构,表达的蛋白有 Occludin、ZO-1、Claudin-11 等。黏附连接存在于支持细胞之间和支持细胞与生殖细胞之间,主要包括  $\beta$ -catenin、N-cadherin 等。缝隙连接作为化学信息通道在支持细胞-支持细胞及支持细胞-生精细胞之间传递信号,Cx43 是表达最丰富的缝隙连接蛋白<sup>[39]</sup>。其中补肾法对于提高少弱精子症模型的血睾屏障稳定性效果最为显著,以枸杞子-菟丝子为核心药物的补肾生精药对于少弱精子症模型大鼠能够增加血睾屏障中 ZO-1 水平、Occludin、 $\beta$ -catenin、N-cadherin、Cx43 水平;杜仲补天素胶囊能够促进 Occludin、N-cadherin、Cx43 水平。此外,对于自然衰老型大鼠,及睾丸染毒模型,补肾益气方也有一定疗效,可提高 Occludin、ZO-1、 $\beta$ -catenin 表达水平。此类中药均具有补肾益精的功效,提示补肾法可通过对支持细胞骨架相关蛋白,血睾屏障结构相关蛋白的修复机制起到恢复生精功能的作用。

本研究数据同时表明补肾益精中药可以调控支持细胞功能,增加支持细胞分泌相关因子表达,改善生精,提高精子发生功能。补益类中药能够有效提升少弱精子症模型的增加睾丸组织中 FSHR mRNA、ABP mRNA、TF、INHBA mRNA、SCF mRNA、GDNF mRNA 表达,提高血清中 FSHR、INHBA、SCF、GDNF 水平。腺垂体促性腺激素细胞分泌的 FSH 与支持细胞膜上表达的 FSHR 特异性结合,刺激 SHBG 分泌,高浓度的雄激素促使次级精母细胞发育分化为精子。此外 FSHR 被激活后,可以通过多条信号途径,如通过提高 Wnt/ $\beta$ -catenin 信号通路相关基因表达,促进支持细胞的增殖,FSHR 的表达及其调控在启动和维持精子的生成、数量和质量方面具有重要的意义<sup>[40]</sup>。INHBA 在成年男性体内对 FSH 起负相关作用,目前普遍用于评价支持细胞功能、睾丸生精功能的血清标记物。ABP 蛋白仅能够在成年男性睾丸内支持细胞合成和分泌,对雄激

素具有高度亲和力,在调节维持生精小管内雄激素浓度、促进精子的生发方面具有重要作用,因此目前临床上 ABP 被用于对支持细胞功能进行检测的相关指标。精浆转铁蛋白主要由睾丸支持细胞分泌、合成,能够与血液中的铁结合,并转运至生殖细胞内,能够参与精子的发育与成熟,是反映睾丸支持细胞功能的标志物之一。在精子发生过程中,支持细胞及其分泌相关细胞因子 GDNF、SCF、BMP4 主要充当了归巢角色,通过调节精原干细胞的增殖分化、提供营养支持等过程,促进精子的发生<sup>[41]</sup>。此外,益气补肾法对于治疗自然衰老型模式,修复调节睾丸染毒模型鼠同样具有疗效,如淫羊藿苷、淫羊藿总黄酮、五子衍中丸类。现代医家多认为,“下丘脑-垂体-肾上腺”生殖轴与生殖功能密切相关,肾气、天癸不足可导致性激素低下,故肾气、肾精不足可导致支持细胞分泌的调节生殖相关激素低下紊乱,中药补肾益气类药物可通过调节支持细胞功能及其分泌的相关因子,参与性激素反馈及精原干细胞增殖分化的过程,从而改善生精功能。见表 5。

在分析过程中,笔者推测多对象多药品的研究可能是产生 Meta 分析精子密度及精子数量合并时结果异质性的来源之一。同时,由于干预时间不同,实验用鼠的生精周期多为 35 d,少于一个生精周期及超过一个生精周期都会对精子质量造成不同程度的差异。在文献质量方面,大多数纳入的研究分配隐藏、盲法研究等内容报告不充分,且无法判定存在其他偏倚,造成了整体研究质量较差,可能存在偏倚。

目前中药干预生精功能损害模型动物实验在设计、实施过程中未能完全遵循 SYRCLE 要求。本研究局限性,①效应值点落在无效线右侧,说明中药是有效的,但由于各研究间异质性过高,其真实效果仍有待进一步探究;②对纳入实验研究结果的高异质性进行检验,相关多因素协同回归分析及亚组分析。但因研究间方药、造模严重程度、检测方法等差异,对其异质性来源的解释度仍有限。亚组分析中按照现有条件分组,未完全降低异质性。未来研究设计如进行标准的生精周期干预,或基于支持细胞更新周期进行用药,可能会使得疗效及机制更加标准化及客观化。同时在造模方面,虽然生精功能损害动物模型目前的药物使用剂量较为公认,但几个模型间造模严重程度仍存在差异。建议用睾丸病理评分对模型基线进行评估及统一,有利于

表5 中药干预生精功能的支持细胞结构功能靶点及其作用

Table 5 Structural and functional targets of Sertoli cells and effects in intervention of traditional Chinese medicine in spermatogenesis

分类	项目	靶点	促生精功能具体作用	
支持细胞结构	支持细胞骨架	Vimentin	锚定生精细胞在生精上皮上,维持生精上皮的完整性	
		血睾屏障紧密连接	Occludin	使相邻支持细胞间形成拉链式的开启与关闭
			ZO-1	两端跨膜蛋白、膜内肌动蛋白微丝,形成紧密连接复合体
	Claudin-11		与ZO-1等蛋白相互作用,维持紧密连接通透性和信号转导	
	血睾屏障黏附连接	$\beta$ -catenin	将复合物连接到肌动蛋白或肌动蛋白,形成稳定的连接	
		N-cadherin	介导细胞和细胞之间的动态黏附,与肌动蛋白结合形成黏附连接复合物结构,加强细胞与细胞之间的黏附作用	
	血睾屏障缝隙连接	Cx43	产生细胞间缝隙连接通讯,促进连接蛋白的正确定位,维持屏障渗透性	
支持细胞功能	FSHR	调节支持细胞对FSH的反应性,影响细胞内信号转导及生精细胞间信息和物质交流,从而影响精子发生的微环境		
	INHB	选择性地抑制脑垂体合成和分泌FSH,阻断下丘脑刺激引起的垂体FSH释放,对FSH起负反馈调节作用		
	ABP	与睾酮特异性结合,防止睾酮降解,使生精小管内的睾酮维持在一个较高水平,为精子的产生和发育成熟提供适宜的内环境		
	TF	将铁转运至由血睾屏障分离的生殖细胞中		
	SCF、BMP4	调控精原干细胞分化		
	GDNF	精原干细胞体外存活的必须因子		

注:中药作用均为上调

后续生精功能研究的探索。③本研究所纳入的文献均为中国地区的研究,故结果可能存在发表偏倚。

### 5 结论

综上所述,现有相关证据表明,中药补益肾精、肾气能够有效提高生精功能损害动物模型的精子密度及活力,改善睾丸支持细胞结构及功能,此外,其应用不止于少弱精子症,对于老年肾气亏虚或现代污染等影响的睾丸生精功能障碍也具有一定疗效。但由于纳入的研究尚存在一定的方法学缺陷,还有待高质量的实验研究来予以验证。

[利益冲突] 本研究不存在任何利益冲突。

#### [参考文献]

[1] NI F, HAO S, YANG W. Multiple signaling pathways in Sertoli cells: Recent findings in spermatogenesis. [J]. Cell Death Dis, 2019, 10(8): 541-555.

[2] 张艳, 张长城, 杨圆, 等. 肾气丸对自然衰老大鼠睾丸支持细胞紧密连接功能损伤的保护作用及其机制研究[J]. 中药新药与临床药理, 2021, 32(6): 783-790.

[3] 李环, 曲振廷, 钱鸿昊, 等. 人参皂苷 Rg<sub>1</sub> 联合人参皂苷 Rg<sub>3</sub> 对雄性生殖功能损伤模型小鼠生殖功能的改善作用[J]. 吉林大学学报: 医学版, 2020, 46(4):

707-713.

[4] 尤旭. 从自噬角度研究增龄过程中睾丸 Sertoli 细胞损伤机制及淫羊藿苷的干预作用[D]. 宜昌: 三峡大学, 2020.

[5] ZHAO H, YOU X, CHEN Q, et al. Icaritin improves age-related testicular dysfunction by alleviating sertoli cell injury via upregulation of the ERalpha/Nrf2-signaling pathway[J]. Front Pharmacol, 2020, 11(7): 677-691.

[6] 袁卓珺, 邢益涛, 冯青, 等. 益肾活血方对精子活力低下症病理模型大鼠精子活动力及血清生殖内分泌激素的影响[J]. 时珍国医国药, 2020, 31(2): 286-289.

[7] 崔天薇, 刘保兴, 张秀平, 等. 补肺益肾方对肾精亏虚证大鼠睾丸支持细胞和生精功能的影响[J]. 中国中西医结合杂志, 2020, 40(3): 342-346.

[8] 管斯琪, 祝雨田, 董雷, 等. “菟丝子-枸杞子”药对修复生精功能障碍大鼠血睾屏障的机制研究[J]. 中国性科学, 2020, 29(2): 100-107.

[9] 管斯琪. 补肾生精法治疗少弱精子症及其调控生精细胞增殖与凋亡的研究[D]. 北京: 北京中医药大学, 2020.

[10] 曹兵, 孙亚萍, 司彦坡, 等. 杜仲补天素胶囊对双酚 A 诱导小鼠生精障碍的保护作用研究[J]. 中国新药杂志, 2020, 29(3): 343-351.

- [11] 李琰峰. 基于 SCF/c-kit-PI3K-Bcl-2 通路探讨广嗣育麟汤治疗男性不育的疗效及其作用机制的研究[D]. 北京:北京中医药大学, 2020.
- [12] 董雷. 李海松教授治疗少弱精子症组方规律分析及核心处方分子机制研究[D]. 北京:北京中医药大学, 2019.
- [13] 黄小庆,徐云森,吴江平,等. 温肾丸对肾阳虚生精障碍大鼠治疗作用的药效学研究[J]. 贵州医药, 2019, 43(7):1019-1022.
- [14] 高云霄. 五子衍宗丸对小鼠睾丸支持细胞紧密连接通透性的调节作用[D]. 北京:北京中医药大学, 2019.
- [15] 李俊君. 强精片对SD大鼠血睾屏障损伤的修复机制研究[D]. 成都:成都中医药大学, 2019.
- [16] 陈茜,张长城,韩贵芳,等. 淫羊藿总黄酮改善自然衰老大鼠睾丸支持细胞分泌功能衰退的作用[J]. 中国药理学与毒理学杂志, 2019, 33(3):208-215.
- [17] 丁小明,林文东. 巴戟天水提取物对精索静脉曲张SD大鼠支持细胞波形蛋白表达的影响[J]. 局解手术学杂志, 2018, 27(7):473-476.
- [18] 丁小明. 巴戟天多糖对实验性精索静脉曲张大鼠睾丸支持细胞FSHR表达的影响[D]. 福州:福建医科大学, 2016.
- [19] 刘珍财,赵海霞,马娜,等. 基于PI3K/Akt通路观察五子衍宗方对老龄大鼠精原干细胞增殖的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2018, 24(23):119-125.
- [20] 刘珍财,赵海霞,马娜,等. 五子衍宗方对自然衰老大鼠睾丸损伤的保护作用及其机制研究[J]. 中药材, 2017, 40(12):2920-2924.
- [21] 刘纳川,王一洲,姚晨成,等. 麒麟丸对无精子症模型小鼠睾丸生精功能的影响[J]. 中华男科学杂志, 2018, 24(9):811-818.
- [22] 王凤月. PI3K/c-Src/FAK信号转导通路在九香虫干预锰暴露大鼠睾丸损伤中的作用[D]. 遵义:遵义医学院, 2018.
- [23] 曹义娟. 锁阳水提取物对少、弱精子症大鼠模型的精子活动参数和血清睾酮的影响及促进未分化精原细胞增殖、相关基因表达的实验研究[D]. 苏州:苏州大学, 2017.
- [24] 王彬,马健雄,马凰富,等. 左归丸对少弱精子症大鼠模型生殖内分泌激素的作用研究[J]. 中国性科学, 2017, 26(11):78-81.
- [25] 马凰富. 左归丸治疗少弱精子型男性不育症的临床和实验研究[D]. 北京:北京中医药大学, 2016.
- [26] 柯明辉. 基于支持细胞骨架研究补肾填精法治疗男性不育少精子症的效果和机制[D]. 北京:北京中医药大学, 2017.
- [27] 陈桐君,相健美,王玮. 巴戟天萃取物对环磷酸腺苷诱导生精障碍大鼠支持细胞的影响[J]. 广东医学, 2016, 37(19):2855-2859.
- [28] 宫廷. 菟丝子黄酮干预幼鼠、成鼠生精调控基因SCF/c-kit、CREM、C-myc表达的对比研究[D]. 郑州:河南中医药大学, 2016.
- [29] 张秀平. 五子衍宗丸对肾精亏虚证大鼠Cox7a2及Claudin-11表达的影响[D]. 北京:北京中医药大学, 2015.
- [30] 杨超伟. 中药方剂—五子衍宗丸对肾虚精亏证大鼠睾丸支持细胞分泌功能的影响[D]. 北京:北京中医药大学, 2014.
- [31] 尤耀东,陈帝昂,张培海,等. 强精片对不育大鼠睾丸内FasL、ABP及Occludin蛋白表达影响的实验研究[J]. 中国男科学杂志, 2015, 29(11):13-18.
- [32] 刘艳荣,葛振丹,金海,等. 灵芝孢子粉对镉致雄性大鼠睾丸雄激素结合蛋白和抑制素表达的影响[J]. 遵义医学院学报, 2015, 38(3):244-247.
- [33] 高连连. 环境内分泌干扰物的抗雄激素活性与性腺发育不良发病的关系及其中药拮抗治疗作用机制的研究[D]. 上海:复旦大学, 2014.
- [34] 王力. 益精方对腺嘌呤法大鼠睾丸支持细胞紧密连接蛋白表达的调控[D]. 沈阳:辽宁中医药大学, 2014.
- [35] 赵亚兵. 枸杞多糖对大鼠睾丸支持细胞辐射损伤的恢复作用[D]. 郑州:郑州大学, 2012.
- [36] 王春娥. 椒蒿对小鼠自身免疫性睾丸炎生精小管影响的研究[D]. 乌鲁木齐:新疆医科大学, 2010.
- [37] 杨阿民,刘保兴,张圣强,等. 五子衍宗丸改善肾精亏虚大鼠支持细胞功能的机理研究[J]. 北京中医药大学学报, 2010, 33(6):378-380.
- [38] 张德迎,何大维,魏光辉,等. 叶下株提取物对盐酸氮芥损伤睾丸组织N-钙粘蛋白表达的保护作用[J]. 中华男科学杂志, 2008, 14(5):396-400.
- [39] MILLER S R, CHERRINGTON N J. Transepithelial transport across the blood-testis barrier [J]. *Reproduction*, 2018, 156(6):R187-R194.
- [40] LIVIO C, PASCALE C, ERIC R, et al. FSH for the treatment of male infertility[J]. *Int J Mol Sci*, 2020, 21(7):270-291.
- [41] DE ROOIJ D G. The spermatogonial stem cell niche [J]. *Microsc Res Tech*, 2009, 72(8):580-585.

[责任编辑 顾雪竹]